



SCHWEIZERISCHE EIDGENOSSENSCHAFT  
CONFÉDÉRATION SUISSE  
CONFEDERAZIONE SVIZZERA

## Bescheinigung

Die beiliegenden Akten stimmen mit den ursprünglichen technischen Unterlagen des auf der nächsten Seite bezeichneten Patentgesuches für die Schweiz und Liechtenstein überein. Die Schweiz und das Fürstentum Liechtenstein bilden ein einheitliches Schutzgebiet. Der Schutz kann deshalb nur für beide Länder gemeinsam beantragt werden.



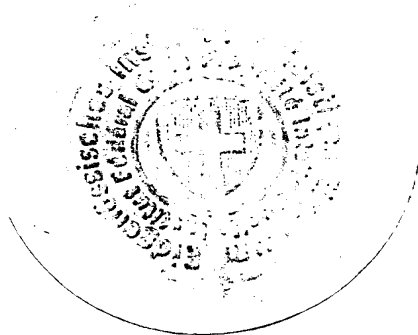
## Attestation

Les documents ci-joints sont conformes aux pièces techniques originales de la demande de brevet pour la Suisse et le Liechtenstein spécifiée à la page suivante. La Suisse et la Principauté de Liechtenstein constituent un territoire unitaire de protection. La protection ne peut donc être revendiquée que pour l'ensemble des deux Etats.

## Attestazione

Gli uniti documenti sono conformi agli atti tecnici originali della domanda di brevetto per la Svizzera e il Liechtenstein specificata nella pagina seguente. La Svizzera e il Principato di Liechtenstein formano un unico territorio di protezione. La protezione può dunque essere rivendicata solamente per l'insieme dei due Stati.

Bern, 15. Mai 1998



Eidgenössisches Institut für Geistiges Eigentum  
Institut Fédéral de la Propriété Intellectuelle  
Istituto Federale della Proprietà Intellettuale

Patentgesuche  
Demandes de brevet  
Domande di brevetto

*U. Kohler*

**Patentgesuch Nr. 1997 1456/97**

HINTERLEGUNGSBESCHEINIGUNG (Art. 46 Abs. 5 PatV)

Das Eidgenössische Institut für Geistiges Eigentum bescheinigt den Eingang des unten näher bezeichneten schweizerischen Patentgesuches.

Titel:

Verwendung von Tetrahydrofolaten in der natürlichen stereoisomeren Form zur Herstellung einer pharmazeutischen Zubereitung geeignet zur Beeinflussung des Homocystein-Spiegels.

Patentbewerber:

Eprova AG

Im Laternenacker 5

8200 Schaffhausen

Anmeldedatum: 13.06.1997

Voraussichtliche Klassen: A61K

EPROVA AG  
CH-8200 Schaffhausen

**Verwendung von Tetrahydrofolaten in der natürlichen stereoisomeren  
Form zur Herstellung einer pharmazeutischen Zubereitung geeignet zur  
Beeinflussung des Homocystein-Spiegels**

**Verwendung von Tetrahydrofolaten in der natürlichen stereoisomeren Form zur Herstellung einer pharmazeutischen Zubereitung geeignet zur Beeinflussung des Homocystein-Spiegels**

5 Diese Erfindung bezieht sich auf die Verwendung von Tetrahydrofolaten in der natürlichen stereoisomeren Form zur Herstellung einer pharmazeutischen Zubereitung geeignet zur Beeinflussung des Homocystein-Spiegels, im speziellen zur Vorbeugung und Behandlung von Herz-/Kreislaufkrankungen und zur Vorbeugung von Neural-Tube-Defects.

10

Im vorliegenden Text beziehen sich Tetrahydrofolate in der natürlichen stereoisomeren Form auf 5-Formyl-(6S)-tetrahydrofolsäure, 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure, 5,10-Methylen-(6R)-tetrahydrofolsäure oder (6S)-Tetrahydrofolsäure oder deren pharmazeutisch verträglichen Salze.

15

Als Arzneimittel wurden Tetrahydrofolate bisher vorwiegend als Calcium-Salz der 5-Formyl-5,6,7,8-tetrahydrofolsäure (Leucovorin) oder der 5-Methyl-5,6,7,8-tetrahydrofolsäure verwendet zur Behandlung von megaloblastischer Folsäure-Anämie, als Antidot zur Verstärkung der Verträglichkeit von Folsäure-Antagonisten, speziell  
20 von Aminopterin und Methotrexat in der Krebstherapie ("Antifolate rescue"), zur Verstärkung des therapeutischen Effektes von fluorierten Pyrimidinen und der Behandlung von Autoimmunkrankheiten wie Psoriasis und rheumatischer Arthritis, zur Verstärkung der Verträglichkeit von bestimmten Antiparasitika, etwa Trimethoprim-Sulfamethoxazol sowie zur Verminderung der Toxizität von Dideazetetrahydrofolaten  
25 in der Chemotherapie.

30

Homocystein ist eine Thiol-enthaltende Aminosäure, die bei der Demethylierung von Methionin entsteht. In Körperflüssigkeiten liegt Homocystein in oxidierter Form als Disulfid (Homocystin), gemischte Disulfide und als cyclisiertes Oxidationsprodukt (Homocystein-Thiolacton) vor.

Hyperhomocysteinämie ist eine klinische Störung, die verschiedene angeborene oder erworbene Ursachen haben kann. Diese Störungen haben eine erhöhte Konzentration von Homocystein im Blut und im Harn zur Folge.

Die häufigste Form von Hyperhomocysteinämie resultiert aus einem Defekt der Cystathion- $\beta$ -Synthase, einem Enzym im Transsulfurierungspfad, in dem Methionin in Cystein umgewandelt wird. Eine andere Form basiert auf einem Defekt der 5,10-Methylentetrahydrofolat-Reduktase, die das Substrat, 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofol-säure, für die B<sub>12</sub>-abhängige Umwandlung von Homocystein zu Methionin liefert. Hyperhomocysteinämie kann auch als Folge von Funktionsstörungen der Leber auf-treten. In all diesen Fällen bedeutet der Begriff Hyperhomocysteinämie eine vorüber-gehende oder permanente Erhöhung des Homocystein-Spiegels im Blut, der z. T. begleitet wird von einer erhöhten Homocystin-Ausscheidung im Harn.

Hyperhomocysteinämie hat eine Reihe von Krankheiten zur Folge, die sich in schwe-ren vaskularen, okularen, neurologischen und skeletalen Abnormitäten zeigen.

Verschiedene klinische Studien zeigen einen klaren Zusammenhang zwischen einem erhöhten Homocystein-Level im Serum und der Entwicklung von Herz-/Kreislauferkrankungen. Homocysteinämie wird als unabhängiger Risikofaktor bei Herz-/Kreislauferkrankungen angesehen. Allgemeine Angaben können gefunden werden in K.L. Resch ed, Risikofaktor Homocystein Daten-Fakten-Strategien, Gesell-schaft für Medizinische Information ISBN 3-980 45 36-0-X. Im Zusammenhang zwischen Hyperhomocysteinämie und Arteriosklerose sei auf L.J. Fortin et al, Clinical Biochemistry, Vol. 28(2), 1995, Seiten 155-162 hingewiesen. Hyperhomocysteinämie und Neural-Tube-Defects wurden beschrieben von J.L. Mills et al, Supplement Publi-cation to the Ceres-Forum on June 14, 1995, 1996, Seiten 756S-760S.

Die Verwendung von Tetrahydrofolaten in der natürlichen stereoisomeren Form zur Herstellung einer pharmazeutischen Zubereitung geeignet zur Beeinflussung des Homocystein-Spiegels wurde bisher weder vorgeschlagen noch beschrieben.

Es wurde gefunden, dass die Verwendung von pharmazeutischen Zubereitungen enthaltend die natürliche stereoisomere Form von Tetrahydrofolaten den Homo-cystein-Spiegel beeinflusst.

- Die natürliche stereoisomere Form von Tetrahydrofolaten bezieht sich auf 5-Formyl-(6S)-tetrahydrofolsäure, 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure, 5,10-Methylen-(6R)-tetrahydrofolsäure, 5,10-Methenyl-(6R)-tetrahydrofolsäure, 10-Formyl-(6R)-tetrahydrofolsäure, 5-Formimino-(6S)-tetrahydrofolsäure oder (6S)-Tetrahydrofolsäure oder deren pharmazeutisch verträglichen Salze. Verwendet werden reduzierte Folate, welche im Folatstoffwechsel in der Regel gegenseitig ineinander umgewandelt werden können. Bevorzugt werden aber 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure und dessen pharmazeutisch verträglichen Salze verwendet, da 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure direkt an der Übertragung der Methylgruppe von Homocystein zu Methionin beteiligt ist. Speziell gilt dies bei vorhandener Methylentetrahydrofolat-Reduktase-Defizienz, wie z.B. bei vorhandener thermolabiler Methylentetrahydrofolat-Reduktase. Unter diesen Umständen können Tetrahydrofolate nur beschränkt umgewandelt und damit in der Methylierungsreaktion mit eingesetzt werden.
- 15 Pharmazeutisch verträgliche Salze sollten sowohl pharmakologisch wie auch pharmazeutisch verträglich sein. Solche pharmakologisch und pharmazeutisch verträgliche Salze können Alkali- oder Erdalkalimetall-Salze sein, vorzugsweise Natrium-, Kalium-, Magnesium oder Calcium-Salze.
- 20 Pharmazeutische Zubereitungen beziehen sich auf enterale (z. B. oral, sublingual oder rektal), parenterale oder topische (z. B. transdermale) Formen. Als Träger können organische oder anorganische Substanzen verwendet werden, die nicht mit der aktiven Wirksubstanz reagieren, z. B. Wasser, Öl, Benzylalkohol, Polyethylenglycol, Glycerintriacetat oder andere Fettsäureglyceride, Gelatine, Lecithin, Cyclo-
- 25 dextrine, Kohlenhydrate wie Lactobiose oder Stärke, Magnesiumstearat, Talk oder Cellulose. Bevorzugt bei der oralen Anwendung sind Tabletten, Dragées, Kapseln, Pulver, Sirup, Konzentrate oder Tropfen, für die rektale Anwendung bevorzugt sind Zäpfchen, zur parenteralen Anwendung bevorzugt eingesetzt werden Lösungen, wasser- oder ölbasierend oder Lyophilisate.
- 30 Ebenfalls anwendbar sind Suspensionen, Emulsionen oder Implantate und für die topische Anwendung Pflaster oder Cremes.

Pharmazeutische Zubereitungen für die parenterale Anwendung beinhalten sterile wässrige und nichtwässrige Injektionslösungen der pharmazeutisch aktiven Verbindungen, die vorzugsweise isotonisch zum Blut des Empfängers sind.

- 5 Diese Zubereitungen können Stabilisatoren, Additive für die kontrollierte Freisetzung der pharmazeutisch aktiven Verbindungen, Antioxidantien, Puffer, Bakteriostatikas und Hilfsstoffe zur Einstellung einer isotonischen Lösung beinhalten. Wässrige und nichtwässrige sterile Suspensionen können Suspensionszusatzstoffe und Verdickungsmittel beinhalten. Die pharmazeutische Zubereitung kann als Einfachdosis-  
10 oder als Mehrfachdosis-Behälter vorhanden sein, zum Beispiel als verschweisste Ampullen und kann als gefriergetrocknetes (lyophilisiertes) Produkt gelagert und bei Bedarf mit steriler Flüssigkeit, zum Beispiel Wasser oder Salzlösung für den Gebrauch vorbereitet werden. In derselben Art und Weise können auch steriles Pulver, Granulat oder Tabletten verwendet werden. Alle pharmazeutischen Zube-  
15 reitungen können zusätzlich separat oder synergistisch wirkende aktive Verbindungen enthalten.

- Die pharmazeutische Zubereitung beinhaltet zwischen 0.001 mg und 1'000 mg der aktiven Wirksubstanz pro Dosis. In der Prophylaxe werden Zubereitungen enthaltend  
20 vorzugsweise zwischen 5 µg und 1'000 µg der aktiven Wirksubstanz pro Dosis eingesetzt. In der Therapie werden Zubereitungen enthaltend vorzugsweise zwischen 0.1 mg und 100 mg der aktiven Wirksubstanz pro Dosis eingesetzt.

- Die Dosierung hängt ab von der Therapieform, von der Anwendungsform der  
25 pharmazeutischen Zubereitung, vom Alter, Gewicht, der Ernährung und Zustand des Patienten. Die Behandlung kann mit tiefer Dosierung unterhalb der optimalen Menge begonnen und bis zur Erreichung des optimalen Effektes gesteigert werden. Bevorzugt kann sich die Dosierungen in der Prophylaxe zwischen 5 µg und 1'000 µg pro Tag, im speziellen zwischen 50 µg und 500 µg pro Tag bewegen. Optimale Dosierun-  
30 gen in der Therapie bewegen sich zwischen 0.1 mg und 100 mg pro Tag, im speziellen zwischen 0.5 mg und 5 mg pro Tag. Die Anwendung kann entweder als Einmalgabe oder als wiederholte Dosierung erfolgen.

## **Beispiele zur Illustrierung der Erfindung**

### **Beispiel 1**

5

#### **Tablette enthaltend 1 mg 5-Formyl-(6S)-tetrahydrofolsäure**

Eine Mischung von 13.3 g 5-Formyl-(6S)-tetrahydrofolsäure-Calciumsalz-Pentahydrat (entsprechend 10 g 5-Formyl-(6S)-tetrahydrofolsäure), 4 kg Lactose, 1.2 kg Stärke, 10 0.2 kg Talk und 0.1 kg Magnesiumstearat werden zu Tabletten gepresst, so dass jede Tablette 1 mg 5-Formyl-(6S)-tetrahydrofolsäure enthält.

Die Tablette kann beschichtet als Filmtablette oder gemahlen und in Kapseln abgefüllt verwendet werden.

15

### **Beispiel 2**

#### **Zäpfchen enthaltend 60 mg 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure**

20

Eine Mischung von 632 g 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure-Calciumsalz-Pentahydrat (entsprechend 500 g 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure), 50 g Hydroxypropylcellulose und 2 kg semisynthetische Glyceride werden zu Suppositorien geschmolzen, so dass jedes Zäpfchen 500 mg 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure enthält.

25

### **Beispiel 3**

#### **Injektionslösung enthaltend 0.5 mg 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure**

30

0.5 g 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure, 10 g Glutathion, 30 g Zitronensäure, 160 g Mannitol, 1 g Methyl-p-hydroxybenzoesäure, 17.7 g Natriumhydroxid (oder die notwendige Menge um einen pH-Wert der Lösung von 7.3 bis 7.8 einzustellen) werden



auf 3 Liter Wasser zur Injektion gelöst und in Ampullen abgefüllt, so dass jede Ampulle 0.5 mg 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure enthält.

#### 5 **Beispiel 4**

##### **Injizierbares Lyophilisat enthaltend 1 mg (6S)-Tetrahydrofolsäure**

10 Eine Lösung von 1 g (6S)-Tetrahydrofolsäure-Natriumsalz in 1'000 ml doppelt destilliertem Wasser wird in Ampullen sterilfiltriert und lyophilisiert, so dass jede Ampulle 1 mg (6S)-Tetrahydrofolsäure enthält.

15 Tetrahydrofolsäure ist sehr sauerstoffempfindlich, daher muss strikte sauerstoff-frei gearbeitet werden. Der Einsatz eines Oxidationsschutzmittels wie Ascorbinsäure kann notwendig sein.

#### **Beispiel 5**

##### 20 **Injizierbares Lyophilisat enthaltend 20 mg 5,10-Methylen-(6R)-tetrahydrofolsäure**

25 Eine Lösung von 10 g  $\beta$ -Hydroxypropyl-Cyclodextrin-Einschlussverbindung von 5,10-Methylen-(6R)-tetrahydrofolsäure-Natriumsalz in 2'000 ml doppelt destilliertem Wasser wird in Ampullen sterilfiltriert, so dass jede Ampulle 20 mg 5,10-Methylen-(6R)-tetrahydrofolsäure enthält.

Für 5,10-Methylentetrahydrofolsäure gelten die gleichen Vorsichtsmassnahmen wie für Tetrahydrofolsäure (Beispiel 4).

30

### Beispiel 6

#### Tablette enthaltend 0.4 mg 5-Formyl-(6S)-tetrahydrofolsäure

- 5 Eine Mischung von 5.32 g 5-Formyl-(6S)-tetrahydrofolsäure-Calciumsalz-Pentahydrat (entsprechend 4 g 5-Formyl-(6S)-tetrahydrofolsäure), 4 kg Lactose, 1.2 kg Stärke, 0.2 kg Talk und 0.1 kg Magnesiumstearat werden zu Tabletten gepresst, so dass jede Tablette 4 mg 5-Formyl-(6S)-tetrahydrofolsäure enthält.
- 10 Die Tablette kann beschichtet als Filmtablette oder gemahlen und in Kapseln abgefüllt verwendet werden.

### Beispiel 7

15

#### Injizierbares Lyophilisat enthaltend 10 µg 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure

- Eine Lösung von 10 mg 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure-Natriumsalz in 1'000 ml doppelt destilliertem Wasser wird unter Schutzgas in Ampullen sterilfiltriert und
- 20 lyophilisiert, so dass jede Ampulle 10 µg 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure enthält.

Tetrahydrofolsäure ist sehr sauerstoffempfindlich, daher muss strikte sauerstoff-frei gearbeitet werden. Der Einsatz eines Oxidationsschutzmittels wie Ascorbinsäure kann notwendig sein.

25

### **Patentansprüche**

1. Verwendung von Tetrahydrofolaten in der natürlichen stereoisomeren Form zur Herstellung einer pharmazeutischen Zubereitung geeignet zur Beeinflussung des Homocystein-Spiegels.  
5
2. Verwendung von Tetrahydrofolaten in der natürlichen stereoisomeren Form zur Herstellung einer pharmazeutischen Zubereitung geeignet zur Vorbeugung und Behandlung von Herz-/Kreislaufkrankungen.  
10
3. Verwendung von Tetrahydrofolaten in der natürlichen stereoisomeren Form zur Herstellung einer pharmazeutischen Zubereitung geeignet zur Vorbeugung von Neural-Tube-Defects.
- 15 4. Verwendung von Tetrahydrofolaten in der natürlichen stereoisomeren Form gemäss den Ansprüchen 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass als Tetrahydrofolat 5-Formyl-(6S)-tetrahydrofolsäure, 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure, 5,10-Methylen-(6R)-tetrahydrofolsäure, 5,10-Methenyl-(6R)-tetrahydrofolsäure, 10-Formyl-(6R)-tetrahydrofolsäure, 5-Formimino-(6S)-tetrahydrofolsäure oder  
20 (6S)-Tetrahydrofolsäure, oder deren pharmazeutisch verträgliche Salze eingesetzt werden.
5. Verwendung von Tetrahydrofolaten in der natürlichen stereoisomeren Form gemäss den Ansprüchen 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass als Tetrahydrofolat 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure oder ein pharmazeutisch verträgliches Salz von 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure eingesetzt wird.  
25
6. Verwendung von Tetrahydrofolaten in der natürlichen stereoisomeren Form gemäss den Ansprüchen 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass als Tetrahydrofolat 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure oder ein pharmazeutisch verträgliches Salz von 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure eingesetzt wird und die Anwendung bei vorhandener Methylentetrahydrofolat-Reductase-Defizienz erfolgt.  
30


- 5 7. Verwendung von Tetrahydrofolaten in der natürlichen stereoisomeren Form gemäß den Ansprüchen 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass als Tetrahydrofolat 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure oder ein pharmazeutisch verträgliches Salz von 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure eingesetzt wird und die Anwendung bei vorhandener thermolabiler Methylentetrahydrofolat-Reductase erfolgt.
- 10 8. Pharmazeutische Zubereitungen zur Beeinflussung des Homocystein-Spiegels, dadurch gekennzeichnet, dass sie als aktive Wirksubstanz mindestens eine Verbindung beinhaltet, die ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus 5-Formyl-(6S)-tetrahydrofolsäure, 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure, 5,10-Methylen-(6R)-tetrahydrofolsäure, 5,10-Methenyl-(6R)-tetrahydrofolsäure, 10-Formyl-(6R)-tetrahydrofolsäure, 5-Formimino-(6S)-tetrahydrofolsäure oder 15 (6S)-Tetrahydrofolsäure oder deren pharmazeutisch verträglichen Salze, zusammen mit pharmazeutisch verträglichen Hilfsstoffen.
- 20 9. Pharmazeutische Zubereitungen zur Beeinflussung des Homocystein-Spiegels bei vorhandener thermolabiler Methylentetrahydrofolat-Reductase, dadurch gekennzeichnet, dass sie als aktive Wirksubstanz 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure oder ein pharmazeutisch verträgliches Salz von 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure, zusammen mit pharmazeutisch verträglichen Wirk- und Hilfsstoffen beinhaltet.

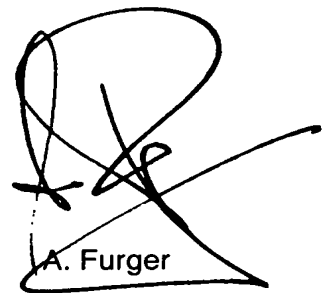
### Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft die Verwendung von Tetrahydrofolaten in der natürlichen stereoisomeren Form zur Herstellung einer pharmazeutischen Zubereitung geeignet zur Beeinflussung des Homocystein-Spiegels, im speziellen zur Vorbeugung und Behandlung von Herz-/Kreislaufferkrankungen und zur Vorbeugung von Neural-Tube-Defects.

Ebenfalls betrifft die Erfindung pharmazeutische Zubereitungen beinhaltend mindestens eine Verbindung ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus 5-Formyl-(6S)-tetrahydrofolsäure, 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure, 5,10-Methylen-(6R)-tetrahydrofolsäure, 5,10-Methenyl-(6R)-tetrahydrofolsäure, 10-Formyl-(6R)-tetrahydrofolsäure, 5-Formimino-(6S)-tetrahydrofolsäure oder (6S)-Tetrahydrofolsäure oder deren pharmazeutisch verträglichen Salze, zusammen mit pharmazeutisch verträglichen Wirk- und Hilfsstoffen, zur Beeinflussung des Homocystein-Spiegels, speziell bei vorhandener Methylentetrahydrofolat-Reductase-Defizienz wie z.B. bei vorhandener thermolabiler Methylentetrahydrofolat-Reductase.

EPROVA AG

  
T. Suter

  
A. Furger

**Abstract**

This invention relates to the use of tetrahydrofolates in natural stereoisomeric form for the  
5 production of a pharmaceutical preparation suitable for influencing the homocysteine level,  
particularly for the prevention and treatment of cardiovascular diseases and the prevention  
of neural tube deficiencies.

The present invention also relates to pharmaceutical preparations comprising at least one  
10 compound selected from the group consisting of 5-formyl-(6S)-tetrahydrofolic acid, 5-  
methyl-(6S)-tetrahydrofolic acid, 5,10-methylene-(6R)-tetrahydrofolic acid, 5,10-methenyl-  
(6R)-tetrahydrofolic acid, 10-formyl-(6R)-tetrahydrofolic acid, 5-formimino-(6S)-tetra-  
hydrofolic acid or (6S)-tetrahydrofolic acid or pharmaceutically compatible salts thereof,  
15 together with pharmaceutically compatible active and adjuvant substances, for influencing  
the homocysteine level, particularly when a methylene tetrahydrofolate reductase deficiency  
exists, such as when thermolabile methylene tetrahydrofolate reductase exists for example.

EPROVA AG

(Signed) (Signed)

T. Suter A. Furger